Untersuchung der Samen von Strophanthus kombé und einer als „Semen Strophanthi hispidi“ bezeichneten Handelsdroge sowie Bemerkungen zur Konstitution des Sarmentogenins

Verkürzte Fassung der

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

ALFRED KATZ

aus Basel

1944

City—Druck AG., Zürich

Untersuchung der Samen von Strophanthus kombé und einer als „Semen Strophanthi hispidi“ bezeichneten Handelsdroge sowie Bemerkungen zur Konstitution des Sarmentogenins

Verkürzte Fassung der

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

ALFRED KATZ

aus Basel

1944

City—Druck AG., Zürich

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der

Herren Professoren T. REICHSTEIN
K. LEUPIN

Basel, den 25. Mai 1943.

H. ERLENMEYER
Dekan.

Herrn Alfred Katz wurde von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 25. Mai 1943 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 25. Mai 1943 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

Untersuchung der Samen von Strophanthus kombé und einer als «Semen Strophanthi hispidi» bezeichneten Handelsdroge, sowie Bemerkungen zur Konstitution des Sarmentogenins

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Separatabdruck aus Pharmaceutica Acta Helvetiae
Bd. 19, Heft 7/8, Jahr 1944

Meinem hochverehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. T. REICHSTEIN

möchte ich an dieser Stelle für das rege Interesse, das er dieser Arbeit stets entgegenbrachte, und für die vielen Anregungen, die ich von ihm empfangen durfte, meinen herzlichen Dank aussprechen.

Meinen lieben Eltern

gewidmet.

Untersuchung der Samen von Strophanthus kombé und einer als „Semen Strophanthi hispidi" bezeichneten Handelsdroge sowie Bemerkungen zur Konstitution des Sarmentogenins[1].

Von A. Katz und T. Reichstein.

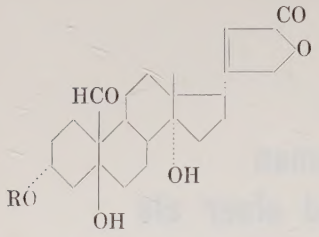
Neben den Samen und Blättern einiger Digitalisarten stellen die Samen verschiedener Strophanthusarten die heute wichtigsten herzwirksamen Drogen dar. Von diesen wiederum haben in der Praxis die Samen von Strophanthus kombé, Strophanthus gratus und Strophanthus hispidus die größte Bedeutung.

Strophanthus kombé.

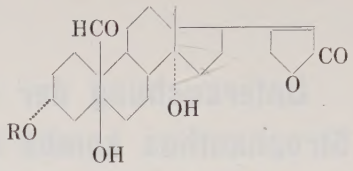
Aus Semen Strophanthi kombé wurden bisher drei hochwirksame Glykoside isoliert: das Cymarin (II)[2], das k-Strophanthin-β (III)[2, 3] und das k-Strophanthosid (IV)[4]; nach vorherigem Weichen in Wasser läßt sich unter teilweiser Allomerisierung auch das biologisch unwirksame Allocymarin (VI)[5] erhalten. Die drei herzwirksamen Glykoside enthalten alle dasselbe Aglykon, das Strophanthidin (I), und unterscheiden sich somit lediglich im Zuckeranteil. Im Cymarin ist das Strophanthidin nur mit Cymarose (VII) verbunden, das k-Strophanthin-β enthält außerdem noch

[1] Auszug aus der Dissertation *A. Katz*, Basel 1943.
[2] *W. A. Jacobs, A. Hoffmann*, Journ. biol. Chemistry *67*, 609 (1926).
[3] *W. A. Jacobs, A. Hoffmann*, Journ. biol. Chemistry *69*, 153 (1926).
[4] *A. Stoll, J. Renz, W. Kreis*, Helv. chim. Acta *20*, 1484 (1937).
[5] *W. A. Jacobs*, Journ. biol. Chemistry *88*, 519 (1930).

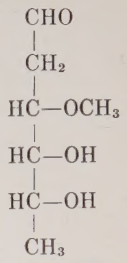
ein Mol Glucose und das k-Strophanthosid ist ein Trisaccharid, in dem das Strophanthidin mit 1 Mol Cymarose und 2 Mol Glucose verbunden ist.



I (R = H) Strophanthidin
II (R = Cymarose-rest) Cymarin
III (R = Glucosido-cymarose-rest) k-Strophanthin-β
IV (R = Diglucosido-cymarose-rest) k-Strophanthosid



V (R = H) Allo-strophanthidin
VI (R = Cymarose-rest) Allo-cymarin



VII Cymarose [6]

Nach *Jacobs* und *Elderfield*[7, 8] und unter Berücksichtigung der inzwischen von *Elderfield* und Mitarbeitern[9] vorgenommenen Korrektur für die Formulierung des Laktonringes besitzt Strophanthidin wahrscheinlich die Formel (I)[10], woraus sich die Formeln (II), (III) und (IV) für die wirksamen Glykoside ergeben. Nach *Stoll* und Mitarbeitern[4] ist in den Samen hauptsächlich das Trisaccharid (IV) enthalten, doch muß zu seiner Gewinnung bei der Aufarbeitung die hydrolysierende Wirkung der gleichzeitig vorhandenen Fermente ausgeschaltet werden.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob in den Samen von Strophanthus kombé außer den bisher isolierten noch andere Glykoside enthalten sind, und zwar vor allem solche, die sich von einem anderen Aglykon, also nicht von Strophanthidin (I) ableiten. Um die Isolierung solcher Nebenprodukte zu erleichtern, haben wir uns nicht bemüht, eventuell vorhandene Di- und Trisaccharide in intakter Form zu fassen. Vielmehr waren wir bestrebt, diese durch längeres Weichen mit Wasser und die dadurch geförderte Fermentwirkung zu spalten, um nur noch ein Gemisch von Monosacchariden zur feineren Trennung zu erhalten. Es mußte dabei allerdings eine andere Komplikation in Kauf genommen werden, indem durch die so begünstigte Fermentwirkung auch eine teilweise Allomerisierung der Glykoside verursacht wird. Trotzdem erwies sich dieses Verfahren als vorteilhaft. Für die Gewinnung der Rohglykoside wurden daher die gemahlenen und mit Petroläther kalt entfetteten Samen einige Tage mit Wasser unter Zusatz von wenig Toluol geweicht und hierauf mehrmals mit 50proz. Alkohol kalt extrahiert. Aus dem Extrakt wurden in üblicher Weise zunächst

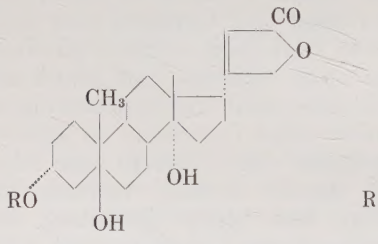
[6] Formuliert nach *R. C. Elderfield*, Journ. biol. Chemistry *111*, 527 (1935).
[7] *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield*, Science *79*, 279 (1934).
[8] *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield*, Journ. biol. Chemistry *108*, 497 (1935).
[9] *W. D. Paist, E. R. Blout, F. C. Uhle, R. C. Elderfield*, Journ. organ. Chemistry *6*, 273 (1941).
[10] Für die räumliche Anordnung in 14- und 17-Stellung haben wir dem Vorschlag von *C. W. Shoppee*, Ann. Review of Biochemistry XI, 103 (1942) (bes. p. 123) den Vorzug gegeben.

Verunreinigungen mit Bleihydroxyd gefällt und die Glykoside hierauf mit Chloroform extrahiert. Aus dem so erhaltenen Gemisch ließ sich zunächst ein aus Methanol-Aether gut kristallisierender Teil (A) abtrennen, der die Hauptmenge Cymarin enthält, aber noch ein Gemisch darstellt. Die verbleibende amorphe Mutterlauge (Teil B) wurde nach der Durchlaufmethode über Al_2O_3 chromatographisch getrennt, wobei sich aus den relativ schwer eluierbaren Anteilen zwei reine Glykoside eluieren ließen, die bisher in Strophanthus kombé noch nicht beobachtet wurden und die sich als identisch mit dem von *Jacobs* und *Bigelow* [11], bzw. *Lamb* und *Smith* [12] aus Strophanthus Eminii isolierten Emicymarin (XI) und Alloemicymarin (XIV) erwiesen. Aus den etwas leichter eluierbaren Anteilen wurde ferner ein weiteres stark wirksames Glykosid erhalten, dessen Einheitlichkeit aber nicht ganz sicher ist und über das daher später berichtet werden soll. In den am leichtesten eluierbaren Anteilen ließen sich Cymarin und Allocymarin nachweisen, doch waren noch andere Glykoside darin enthalten, die sich jedoch durch Chromatographie nur sehr schlecht von jenen abtrennen ließen, offenbar weil die Löslichkeits- und Adsorptionseigenschaften denen des gleichzeitig reichlich anwesenden Cymarins zu ähnlich sind. Dasselbe trifft für Teil A zu, der ebenfalls viel Cymarin und Allocymarin enthielt. Auch nach Acetylierung dieser Anteile lieferte die Chromatographie kein befriedigendes Resultat. Eine glatte Trennung, wobei man allerdings auf die präparative Isolierung des Cymarins und Allocymarins sowie eventueller weiterer Glykoside, die sich vom Strophanthidin (I) oder Allo-strophanthidin (V) ableiten, verzichten mußte, gelang dagegen durch Behandlung des acetylierten Gemisches [13] mit Girards Reagens T [14]. Dieses ausgezeichnete Reagens ist, soweit uns bekannt, bisher für die Trennung von Glykosiden noch nie benützt worden. Die Acetate von Cymarin (II) und Allo-cymarin (VI), die beide eine Aldehydgruppe besitzen, gehen dabei in wasserlösliche Derivate über, aus denen sie sich bisher nicht wieder regenerieren ließen, sodaß sie also bei dieser Behandlung verloren gehen. Analog verhalten sich andere Glykoside, die sich von (I) ableiten, z. B. Convallatoxin. Da es uns aber gerade darauf ankam, solche Glykoside zu suchen, die sich nicht von (I), bzw. (V) ableiten, spielt dieser Umstand für den genannten Zweck keine Rolle.

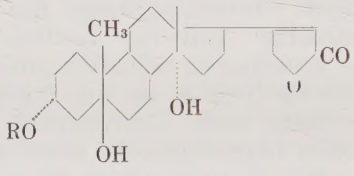
Die durch Chromatographie von Emicymarin und Allo-emicymarin befreiten Anteile aus B wurden daher nach dieser Methode getrennt, d. h. acetyliert und hierauf mit Girards Reagens behandelt. Aus den nicht in Reaktion getretenen Anteilen ließen sich darauf durch Chromatographie leicht die Acetate von zwei weiteren Glykosiden isolieren, von denen sich das erste als Periplocymarin-acetat erwies, während das zweite mit diesem isomer war und wahrscheinlich das Acetat des noch nicht beschriebenen Allo-periplocymarins (XIII) darstellt. Auch aus Teil A ließ sich in gleicher Weise Periplocymarin-acetat isolieren, doch war dies mit einigen Schwierigkeiten verbunden, weil auch dieser Teil noch Emicymarin enthielt, das

[11] *W. A. Jacobs, N. M. Bigelow*, Journ. biol. Chemistry *99*, 521 (1933).
[12] *J. D. Lamb, S. Smith*, Journ. chem. Soc. London *1936*, 442.
[13] Die Trennung gelingt auch sehr gut ohne vorherige Acetylierung und ohne Vortrennung durch Chromatographie, worüber später berichtet wird.
[14] *A. Girard, G. Sandulesco*, Helv. chim. Acta *19*, 1095 (1936).

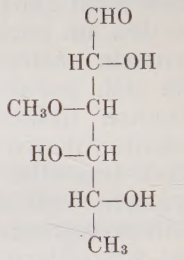
besser vor der Acetylierung entfernt werden sollte. Periplocymarin (IX) ist in reiner Form zuerst von *Jacobs* und *Hoffmann*[15] aus dem ungeschälten Holz von Periploca Graeca (Asclepiadacee) isoliert worden, aus dem von *Stoll* und *Renz*[16] später auch noch das Biosid Periplocin (X) erhalten werden konnte, das wahrscheinlich schon *Lehmann*[17] in nicht ganz reiner Form in Händen hatte. Auch in den Samen von Strophanthus Eminii dürfte Periplocymarin (IX) enthalten sein, obgleich es als solches aus dieser Droge bisher nicht gewonnen wurde, doch isolierten *Jacobs* und *Bigelow*[11] sowie *Lamb* und *Smith*[12] daraus die Spaltstücke Periplogenin (VIII) und Cymarose (VII). Den neu aus Strophanthus kombé isolierten Stoffen Emicymarin (XI), Allo-emicymarin (XIV), Periplocymarin (IX) und Allo-periplocymarin (XIII) werden heute die folgenden Formeln[18] zugesprochen.



VIII (R = H) Periplogenin
IX (R = Cymarose-rest) Periplocymarin
X (R = Glucosido-cymarose-rest) Periplocin
XI (R = Digitalose-rest) Emicymarin



XII (R = H) Allo-periplogenin
XIII (R = Cymarose-rest) Allo-periplocymarin
XIV (R = Digitalose-rest) Allo-emicymarin



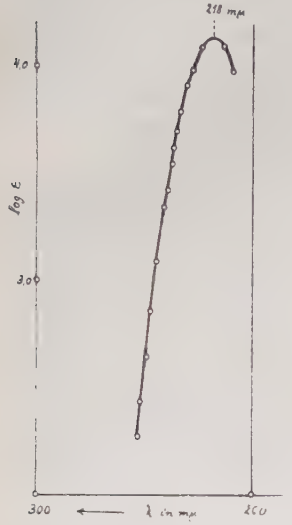
XV Digitalose[19]

Die Formel des Periplogenins (VIII) ist von *Jacobs* und Mitarbeitern[20, 21, 22] aufgestellt worden und gut begründet. Periplocymarin (IX) läßt sich mit verdünnten Säuren leicht in (VIII) und Cymarose (VII) spalten, während Emicymarin (XI) sehr schwer hydrolysierbar ist. Es werden dabei neben Digitalose (XV) nur Anhydro-periplogenin[12] und Trianhydro-periplogenin[12] erhalten, die sich auch aus (VIII) durch Behandlung mit Säuren gewinnen lassen. Es ist demnach nicht sicher bewiesen, wenn auch sehr wahrscheinlich, daß Periplocymarin und Emicymarin sich nur im Zukeranteil unterscheiden und somit dasselbe Aglykon besitzen. Für die durch Enzymwirkung entstehenden, biologisch unwirksamen Allo-glykoside wird meistens angenommen, daß sie sich durch Raumisomerie von

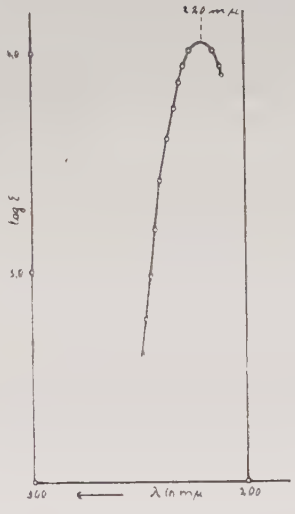
[15] *W. A. Jacobs, A. Hoffmann*, Journ. biol. Chemistry *79*, 519 (1928).
[16] *A. Stoll, J. Renz*, Helv. chim. Acta *22*, 1193 (1939).
[17] *E. Lehmann*, Arch. Pharmaz. *235*, 157 (1897).
[18] Formulierung des Laktonringes nach *Elderfield* und Mitarb.[9]. Formulierung der räumlichen Anordnung in 14- und 17-Stellung vgl. *C. W. Shoppee*[10].
[19] Formuliert nach *O. Th. Schmidt, W. Mayer, A. Distelmaier*, Liebigs Annalen *555*, 27 (1943).
[20] *W. A. Jacobs, A. M. Collins*, Journ. biol. Chemistry *61*, 387 (1924).
[21] *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, Th. B. Grave, E. W. Wignall*, Journ. biol. Chemistry *91*, 617 (1931).
[22] *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield*, Journ. biol. Chemistry *92*, 313 (1931).

den wirksamen unterscheiden. *Tschesche* und Mitarbeiter[23, 24] nehmen Isomerisierung in 17-Stellung an, während *Bloch* und *Elderfield*[25] glauben, daß die Hydroxylgruppe in 14-Stellung ihre räumliche Lage ändert. In obigen Formeln ist der ersteren Annahme der Vorzug gegeben worden.

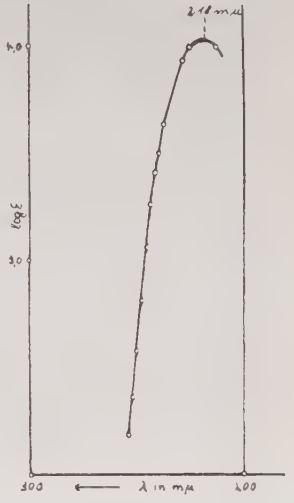
Soweit uns bekannt, ist bisher noch nie bewiesen worden, daß die Doppelbindung in den Alloverbindungen an der gleichen Stelle wie in den wirksamen Glykosiden, also in α, β-Stellung[9] gelegen ist. Die Möglichkeit, daß die Allomerisierung durch eine Verschiebung der Doppelbindung her-



Emicymarinacetat
0,000280 molar in Alkohol



Allo-emicymarinacetat
0,000139 molar in Alkohol



Allo-periplogeninacetat
0,000553 molar in Alkohol

vorgerufen wird, schien uns nicht ausgeschlossen. Wir haben daher sowohl von Allo-emicymarin-acetat wie von Allo-periplogenin-acetat die U.V.-Absorptionsspektren aufnehmen lassen[26]. Da die Absorptionsmaxima der Alloverbindungen innerhalb der Fehlergrenze mit denen der biologisch wirksamen normalen Glykoside[27] übereinstimmen (vgl. obige Kurven von

[23] *R. Tschesche, K. Bohle*, Ber. Dtsch. chem. Ges. *71*, 654 (1938).
[24] *R. Tschesche, K. Bohle, W. Neumann*, Ber. Dtsch. chem. Ges. *71*, 1927 (1938).
[25] *E. Bloch, R. C. Elderfield*, Journ. organ. Chem. *4*, 289 (1939).
[26] Wir danken Herrn P.-D. Dr. *H. Mohler*, Zürich, für die Ausführung dieser Messungen. Sie wurden mit relativ kleinen Substanzmengen ausgeführt, sodaß die Genauigkeit in der Höhe des Maximums nicht sehr groß ist.
[27] *Elderfield* und Mitarb.[9]. Auch die Ultraviolett-Absorptionsspektren synthetischer fünfgliedriger α, β-ungesättigter Laktone zeigen in Alkohol Absorptionsmaxima bei etwa $\lambda = 210$—220 m μ und log ε = etwa 4,05—4,3. Vgl. dazu außer [9] auch *L. Ruzicka, T. Reichstein, A. Fürst*, Helv. chim. Acta *24*, 76 (1941); *L. Ruzicka, P. A. Plattner, A. Fürst*, Helv. chim. Acta *24*, 716 (1941); *L. Ruzicka, P. A. Plattner, G. Balla*, Helv. chim. Acta *25*, 65 (1942); *L. Ruzicka, P. A. Plattner, A. Fürst*, Helv. chim. Acta *25*, 79 (1942); *L. Ruzicka, P. A. Plattner, J. Pataki*, Helv. chim. Acta *25*, 425 (1942); *L. Ruzicka, P. A. Plattner, H. Heußer*, Helv. chim. Acta *25*, 435 (1942); *V. Wenner, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *27*, 24 (1944).

Emicymarinacetat, Allo-emicymarinacetat und Allo-periplogeninacetat), ist die Lage der Doppelbindung als α, β-ständig entsprechend der gegebenen Formulierung weitgehend gesichert. Bei der chromatographischen Trennung sind die Alloverbindungen jeweils etwas leichter eluierbar als die zugehörigen Stoffe der normalen Reihe. Die spez. Drehungen der beiden Reihen sind nur wenig verschieden.

Nimmt man an, daß die Alloverbindungen erst durch die Enzymwirkung beim Weichen der Samen mit Wasser entstanden sind, so ist als neues Ergebnis festzustellen, daß in den Samen von Strophanthus kombé außer den eingangs erwähnten Strophanthin-glykosiden noch Periplocymarin und Emicymarin enthalten sind. Ob diese nur als solche oder auch in Form zuckerreicherer Derivate vorhanden sind, kann durch diese Arbeit nicht entschieden werden. Ferner ist noch ein stark wirksames Glykosid vom Smp. ca. 217°, bzw. eine zuckerreichere Verbindung desselben darin enthalten.

Da alle Strophanthussamen des Handels sehr häufig verfälscht werden, war es natürlich wichtig, festzustellen, ob die von uns verwendeten Samen wirklich ausschließlich von Strophanthus kombé stammten. Mit Sicherheit ist dies leider durch Untersuchung der aus den Schoten entfernten Samen nicht möglich. Zwar wurde dieses schwierige pharmakognostische Gebiet in früheren Jahren ausgiebig bearbeitet[28, 29, 30, 31, 32], aber die Samen unterscheiden sich meistens so wenig voneinander, daß bei der Bestimmung immer eine gewisse Unsicherheit zurückbleibt. Da die Beschaffung von botanisch einwandfrei bestimmtem Material zur Zeit unmöglich war, mußten wir mit einer Handelsdroge arbeiten. Wir bezogen die verwendeten Samen von der Firma vorm. B. Siegfried, Zofingen, die sie frisch aus London erhalten hatte. Die wirkliche Provenienz ließ sich leider nicht ermitteln, aber sowohl die mikroskopische Untersuchung auf Kristalleinschlüsse in der Samenschale[32], die Farbreaktion von Schnitten mit Schwefelsäure[31, 32], wie auch der äußere Habitus ergaben keinerlei Hinweise dafür, daß andere Samen als solche von Strophanthus kombé vorlagen. Jedenfalls entsprachen sie allen üblicherweise an solche gestellten Anforderungen. Mit Sicherheit konnte insbesondere festgestellt werden, daß unserem Material keine wesentlichen Mengen von Semen Strophanthi Eminii beigemischt waren, da sich unter den untersuchten Samen kein einziger solcher vorfand. Das Vorliegen von Samen von Strophanthus hispidus und Strophanthus Arnoldianus, die zwar mit Schwefelsäure eine ähnliche oder gleiche Farbreaktion geben, ist nach dem äußeren Habitus zumindest sehr unwahrscheinlich. Für den Vergleich standen uns botanisch einwandfrei bestimmte Samenproben aus der Sammlung Mathiesen der vier folgenden Arten: Strophanthus kombé, Strophanthus gratus, Strophanthus Eminii und Strophanthus hispidus zur Verfügung, für deren

[28] *C. Hartwich*, Arch. Pharmaz. *230*, 401 (1892).
[29] *V. Payrau*, «Recherches sur les Strophanthus» (Paris 1900) (zitiert nach *Gilg*[31]).
[30] *E. Gilg*, «Strophantus» in *Engler*, Monographien afrikanischer Pflanzenfamilien und Gattungen 7 (Leipzig 1903) (zitiert nach *Gilg*[31]).
[31] *E. Gilg, J. Schuster*, Ber. Dtsch. pharmaz. Ges. *29*, 220 (1919).
[32] *F. J. Mathiesen*, Pharm. Acta Helv. *2*, 228 (1927); *3*, 21, 34 (1928).

Ueberlassung Herrn Professor *Casparis* auch hier bestens gedankt sei [33]. Wir neigen daher zu der Ansicht, daß die genannten zwei Glykoside tatsächlich in den Samen von Strophanthus kombé enthalten sind und nicht einer Beimischung entstammen.

Genau wie das Vorkommen von Strophanthidinglykosiden nicht auf Strophanthusarten beschränkt ist — Cymarin wurde ja zuerst aus kanadischem Hanf (Apocynum cannabinum)[34, 35] sowie anderen Apocyneen, später auch aus Adonis vernalis [36] isoliert, und Convallatoxin aus dem Maiglöckchen [37] ist ein Rhamnosid des Strophanthidins [38] —, so scheinen auch Glykoside des Periplogenins in Strophanthusarten stärker verbreitet zu sein.

Strophanthus hispidus.

Um die Brauchbarkeit der beschriebenen Isolierungsmethode zu prüfen und um festzustellen, ob es möglich ist, aus Semen Strophanthi hispidi in einfacher Weise Sarmentocymarin zu isolieren, dessen Stammpflanze bisher nicht ganz sicher ist, haben wir auch eine als «Semen Strophanthi hispidi» bezeichnete Handelsdroge demselben Aufarbeitungsverfahren unterworfen. Die Beschaffung von einwandfreiem Material war hier noch schwieriger, da zurzeit nicht einmal frische Handelsdroge erhältlich war. Wir mußten uns für den Vorversuch daher mit einem alten Sammlungspräparat begnügen, das sich bei der mikroskopischen Untersuchung zudem als uneinheitlich erwies und mindestens vier verschiedene Samensorten enthielt. Da jedoch anderes Material zurzeit nicht erhältlich war und da die als Semen Strophanthi hispidi gehandelten Drogen außerdem fast stets Gemische darstellen, entschlossen wir uns trotzdem, dieses uneinheitliche Produkt zu verwenden.

Bei der in ähnlicher Weise wie oben beschrieben durchgeführten Trennung ließ sich Cymarin, wenig Emicymarin, wenig Sarmentocymarin sowie ein bei 160° schmelzendes, stark herzwirksames Glykosid isolieren, das noch nicht weiter untersucht wurde. Cymarin wurde von *Jacobs* und *Hoffmann* [39] bereits aus Hispidus-Samen isoliert; daneben erhielten sie Fraktionen von Bi- oder Triglykosiden, die sie aber weder kristallisieren noch spalten konnten. Sarmentocymarin wurde zuerst von *Jacobs* und *Heidelberger* [40] aus einer wahrscheinlich zu Unrecht als Semen Strophanthi hispidi bezeichneten Handelsdroge isoliert. Aus einer botanisch einwandfrei bestimmten Probe von Hispidus-Samen konnten sie es nicht mehr erhalten, dagegen fanden sie es einmal [40] in Samen, die sicher von Strophanthus sarmentosus stammten, während es aus einer anderen Probe

[33] Herr Professor *P. Casparis*, Bern, hatte die Freundlichkeit, eine Probe der von uns verwendeten Samen nochmals unabhängig zu prüfen, und kam dabei zu derselben Schlußfolgerung.

[34] *Taub, Fickewirth*, DRP. 255537; Chem. Ztrbl. *1913*, I, 477.

[35] *A. Windaus, L. Hermanns*, Ber. Dtsch. chem. Ges. *48*, 979 (1915).

[36] *T. Reichstein, H. Rosenmund*, Pharm. Acta Helv. *15*, 150 (1940).

[37] *W. Karrer*, Helv. chim. Acta *12*, 506 (1929).

[38] *T. Reichstein, A. Katz*, Pharmac. Acta Helv. *17*, 521 (1943).

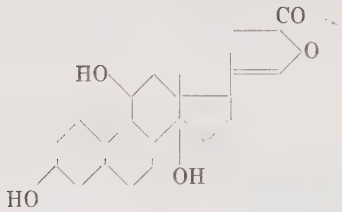
[39] *W. A. Jacobs, A. Hoffmann*, Journ. biol. Chemistry *79*, 531 (1928).

[40] *W. A. Jacobs, M. Heidelberger*, Journ. biol. Chemistry *81*, 765 (1929).

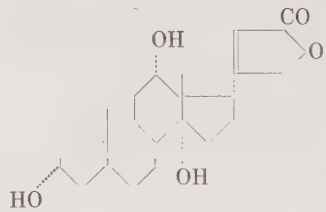
authentischer Sarmentosus-Samen nicht isoliert werden konnte. Dasselbe Glykosid wurde auch von *Tschesche* und *Bohle*[41, 42] isoliert, und zwar ebenfalls aus einer Droge, die fälschlicherweise als Semen Strophanthi hispidi bezeichnet war und die vielleicht ein Gemisch von Semen Strophanthi Barteri Franch. und Semen Strophanthi Preussii Englet Pax darstellte. Die wirkliche Stammpflanze dieses Glykosids ist daher noch unsicher. Auch unsere Untersuchung bringt natürlich keinen Aufschluß. Sobald einwandfreie Hispidus-Samen wieder erhältlich sind, soll geprüft werden, ob Sarmentocymarin darin enthalten ist. Emicymarin und das Glykosid vom Smp. 160° sind bisher aus Hispidussamen nicht isoliert worden.

Bemerkungen zur Konstitution des Sarmentogenins.

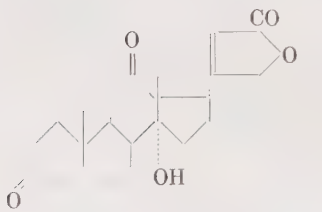
Tschesche und *Bohle*[42] stellten für Sarmentogenin Formel (XVI) auf mit je einer sekundären Hydroxylgruppe in 3- und in 11-Stellung. Nach einer weiteren Arbeit derselben Autoren[43] soll auch Digoxigenin dieselbe Struktur besitzen und sich vom Sarmentogenin lediglich durch räumlichen Bau in 9-Stellung unterscheiden. Nun hat sich inzwischen gezeigt, daß sich die eine Hydroxylgruppe im Digoxigenin nicht in 11-, sondern in 12-Stellung befindet und daß diesem Aglykon die Formel (XVII) zukommt, denn von *Steiger* und *Reichstein*[44] ließ es sich zu einer Dioxy-ätiocholansäure abbauen, die von *Hoehn* und *Mason*[45, 46] als 12-Epi-ätiodesoxycholsäure (XIX)



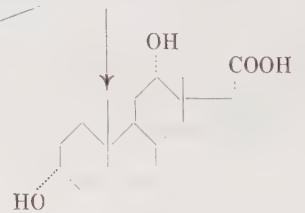
XVI



XVII Digoxigenin



XVIII Digoxigenon



XIX

[41] *R. Tschesche, K. Bohle*, Ber. Dtsch. chem. Ges. *68*, 423 (1935).
[42] *Dieselben*, Ber. Dtsch. chem. Ges. *69*, 2497 (1936).
[43] *R. Tschesche, K. Bohle*, Ber. Dtsch. chem. Ges. *69*, 793 (1936).
[44] *M. Steiger, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *21*, 828 (1938).
[45] *W. M. Hoehn, H. L. Mason*, Journ. Amer. chem. Soc. *60*, 2824 (1938).
[46] *H. L. Mason, W. M. Hoehn*, Journ. Amer. chem. Soc. *61*, 1614 (1939).

(von uns heute als 3α-, 12α-Dioxy-ätiocholansäure bezeichnet) erkannt wurde. Durch die Sicherstellung der Konstitution des Digoxigenins wird man nun auch der Notwendigkeit enthoben, für das Sarmentogenin eine abnorme Konfiguration in 9-Stellung annehmen zu müssen. Diese Annahme sollte erklären, warum die beiden bestimmt verschiedenen Aglykone sich in ein identisches Abbauprodukt überführen lassen, in welchem *Tschesche* und *Bohle* eine Doppelbindung in 9,11-Stellung annehmen.

Nach den bisherigen experimentellen Befunden schien es uns nicht ganz ausgeschlossen, daß das Sarmentogenin dieselbe Struktur besitzt wie Digoxigenin (XVII) und daß es sich von diesem lediglich durch verschiedene räumliche Lage der Hydroxylgruppe in 12-Stellung unterscheidet. Dies sollte sich durch Oxydation entscheiden lassen, denn beide Genine sollten dabei dasselbe Diketon (XVIII) liefern. Solche Oxydationen sind bereits beschrieben. Das Digoxigenon (XVIII) ist von *Smith*[47] bereitet worden. Es schmilzt bei 265° (Zers.) und zeigt eine spez. Drehung von $[\alpha]^{20}_{5461} = +\ 130°$ (c = 0,4 in Aceton). Die Analyse stimmt auf die für (XVIII) berechnete Formel $C_{23}H_{30}O_5$. Die Oxydation von Sarmentogenin wurde von *Jacobs* und *Heidelberger*[40] ausgeführt und lieferte ein Keton vom Smp. 226°, dem sie nach der Analyse die Formel $C_{23}H_{32}O_5$ zuschreiben. Aus diesen Resultaten scheint auf den ersten Blick zu folgen, daß die beiden Genine sich nicht lediglich durch Epimerie in 12-Stellung unterscheiden können. *Jacobs* und *Heidelberger*[40] haben aber die Oxydation unter so milden Bedingungen durchgeführt, daß die Möglichkeit einer nur partiellen Oxydation nicht ausgeschlossen war, was sogar durch ihre Analyse noch bekräftigt wird. Wir haben daher die Oxydation beider Genine nochmals durchgeführt, und zwar in beiden Fällen unter Bedingungen, die eine völlige Dehydrierung beider sekundärer Hydroxylgruppen verbürgen. Es entstanden aber wieder die beiden bereits bekannten und voneinander verschiedenen Diketone. Die Analyse des Sarmentogenons stimmte gut auf die Formel $C_{23}H_{30}O_5$. Es ist demnach völlig ausgeschlossen, daß Sarmentogenin und Digoxigenin sich lediglich durch Epimerie an C_{12} unterscheiden. Will man die experimentellen Befunde von *Tschesche* und *Bohle*[41, 42, 43] als beweiskräftig annehmen, so muß Sarmentogenin eine Hydroxylgruppe in 11-Stellung besitzen. Nimmt man an, daß die weiteren Hydroxylgruppen sich in 3- und 14-Stellung befinden (was nicht bewiesen, aber sehr wahrscheinlich ist), so müßten sich Sarmentogenon und Digoxigenon lediglich durch die Lage der einen Ketogruppe in 11-, bzw. 12-Stellung voneinander unterscheiden. Aus folgender Tabelle geht jedoch hervor, daß der Unterschied in den spez. Drehungen dieser zwei Stoffe bedeutend größer ist als bei anderen Paaren von Sterinderivaten mit gesicherter Konstitution und einer Ketogruppe in 11-, bzw. 12-Stellung. Die Struktur des Sarmentogenins muß somit noch als unsicher gelten.

[47] *S. Smith*, Journ. chem. Soc. London *1935*, 1305.

Substanz	$[\alpha]_D$	Differenz	$[M]_D$	Differenz
Digoxigenon [48] . . .	+ 121,0° ± 2° (Dioxan)	107,0° ± 4°	+ 46765° ± 774°	41354° ± 1548°
Sarmentogenon [48] . . .	+ 14,0° ± 2° (Dioxan)		+ 5411° ± 774°	
3α-Acetoxy-12-keto-cholansäuremethyl-ester [49]	+ 104,8° ± 1,5° (Aceton)	37,7° ± 3,5°	+ 46491° ± 670°	16524° ± 1563°
3α-Acetoxy-11-keto-cholansäuremethyl-ester [50]	+ 67,1° ± 2° (Aceton)		+ 29967° ± 893°	
Pregnantrion-(3, 12, 20) [48, 51] . . .	+ 168,8° ± 2° (Aceton)	49,3° ± 4°	+ 55900° ± 661°	16600° ± 1322°
Pregnantrion-(3, 11, 20) [52]	+ 119,5° ± 2° (Aceton)		+ 39300° ± 661°	
3α-Acetoxy-pregnan-dion-(12,20) [48] . . .	+ 178,4° ± 2° (Aceton)	56,7° ± 5°	+ 66810° ± 749°	21240° ± 1498°
3α-Acetoxy-pregnan-dion-(11,20) [53] . . .	+ 121,7° ± 3° (Aceton)		+ 45570° ± 749°	
3α-Acetoxy-12-keto-ätiocholansäure-methylester [48, 54] . .	+ 150,0° ± 2° (Aceton)	51,9° ± 4°	+ 58600° ± 781°	20292° ± 1562°
3α-Acetoxy-11-keto-ätiocholansäure-methylester [55] . . .	+ 98,1° ± 2° (Aceton)		+ 38308° ± 781°	
3α-Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester [56] . . .	+ 93,9° ± 1,5° (Aceton)	36,3° ± 3,5°	+ 39303° ± 628°	15195° ± 1467°
3α-Acetoxy-11-keto-bisnor-cholansäure-methylester [56] . . .	+ 57,6° ± 2° (Aceton)		+ 24108° ± 839°	
21-Acetoxy-pregnan-trion-(3, 12, 20) [57]	+ 153° ± 3° (Aceton)	45,8° ± 7°	+ 59440° ± 1165°	17800° ± 2719°
21-Acetoxy-pregnan-trion-(3, 11, 20) [58]	+ 107,2° ± 4° (Aceton)		+ 41640° ± 1554°	

[48] Vgl. exper. Teil dieser Arbeit.
[49] *T. Reichstein, M. Sorkin*, Helv. chim. Acta *25*, 797 (1942).
[50] *A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *26*, 586 (1943).
[51] Der von *T. Reichstein, E. von Arx*, Helv. chim. Acta *23*, 747 (1940) angegebene Wert $[\alpha]_D^{17} = + 182{,}1° \pm 7°$ ist somit zu hoch.
[52] *P. Hegner, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *26*, 721 (1943).
[53] *J. von Euw, A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *27*, 821 (1944).
[54] *V. Wenner, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *27*, 965 (1944).
[55] *A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *26*, 705 (1943).
[56] *A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *27*, 713 (1944).
[57] *H. G. Fuchs, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *26*, 511 (1943).
[58] *A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. chim. Acta *26*, 747 (1943).

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem Koflerblock bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze ± 2°.)

Verarbeitung der Samen von Strophanthus kombé.

Ansatz I.

200 g feingemahlene und mit tiefsiedendem Petroläther bei Zimmertemperatur entfettete, aber nicht stabilisierte Samen wurden mit 500 cm³ Wasser angeteigt, zur Konservierung mit 20 cm³ Toluol versetzt und 5 Tage gut verschlossen bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurden 500 cm³ Alkohol zugefügt und die Mischung 1¼ Stunden auf der Maschine geschüttelt. Nun wurde scharf abgenutscht und mit 400 cm³ 50prozentigem Alkohol nachgewaschen. Das Pulver wurde hierauf ein zweites Mal in gleicher Weise mit einem Liter 50proz. Alkohol geschüttelt, abgenutscht und der Rückstand mit 300 cm³ 50proz. Alkohol nachgewaschen. Er war nun kaum mehr bitter und wurde verworfen. Die vereinigten, schwach lackmussauer reagierenden Auszüge wurden mit 200 g (feucht gewogen) frisch gefälltem Bleihydroxyd 5 Stunden auf der Maschine bei 15° geschüttelt und hierauf durch ein mit etwas Bleikarbonat gedichtetes Filter abgenutscht. Das leicht alkalisch reagierende Filtrat (p_H = etwa 8) wurde mit verdünnter Schwefelsäure genau auf Lackmus neutralisiert und hierauf im Vakuum bei 40° Badtemperatur zum dicken Sirup eingeengt, der etwa 60 g wog. Dieser wurde in 200 cm³ Wasser aufgenommen, die leicht trübe Lösung filtriert und das Filtrat 4mal mit je 200 cm³ frisch destilliertem Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge passierten jeweils noch einen zweiten Scheidetrichter mit 40 cm³ Wasser und wurden über Natriumsulfat getrocknet. Darauf wurde das Lösungsmittel im Vakuum bei 35° Badtemperatur vollständig entfernt. Es verblieben 9 g eines grünlichen, glasartigen Extraktes. Dieser wurde in wenig Methanol aufgenommen und die Lösung nicht ganz bis zur Trübung mit Aether versetzt, worauf bald Kristallisation eintrat. Die Kristalle schmolzen nach einmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Aether bei 138—144°. Die Mutterlauge wurde eingeengt, wieder mit Aether versetzt und angeimpft und gab nach längerem Stehen noch etwas Kristalle. Insgesamt wurden 3,1 g kristallisierte Substanz (A) erhalten. Die im Vakuum getrocknete, amorphe Mutterlauge (B) wog 5,9 g.

Ansatz II.

Ein zweiter genau gleicher Ansatz wurde analog behandelt, nur wurden die Samen statt 5 Tage nur 2 Tage der Mazeration mit Wasser überlassen. Es ergaben sich hierbei 7,55 g rohes Glykosidgemisch, aus dem 2,64 g kristallisierte Substanz (A) vom Smp. 135—143° abgetrennt werden konnten.

A. Chromatographische Trennung der amorphen Glykoside (Teil B) aus Ansatz I.

Die 5,9 g amorphes Glykosidgemisch (B) aus Ansatz I wurden zunächst zweimal mit je 750 cm³ abs. Benzol ausgekocht und die nach Abkühlen abgegossene Lösung durch eine mit abs. Benzol bereitete Säule von 100 g Aluminiumoxyd (Merck, standardisiert nach Brockmann) filtriert. Anschließend wurden die ungelösten Glykosidreste noch mit kleineren Portionen Benzol ausgekocht und diese Lösungen nach Verdünnen mit abs. Aether auf die Säule gegossen. Der größte Teil des rohen Glykosidgemisches löste sich auf diese Weise. Der ungelöste Rest wurde hierauf in 75 cm³ Chloroform aufgenommen und diese Lösung mit der 9fachen Menge abs. Benzol versetzt, wobei ein Teil wieder ausfiel. Die Lösung wurde filtriert und als Fraktion 7 auf die Säule gebracht. Der ausgefallene Teil wurde wieder in 75 cm³ Chloroform gelöst und die Lösung mit der 9fachen Menge abs. Benzol versetzt, wobei keine Fällung mehr eintrat. Diese Lösung wurde als Fraktion 8 auf die Säule gegossen, die anschließend mit je 750 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen wurde.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Gewicht in g	Rückstand Aussehen, bzw. Smp. d. Krist. nach einmalig. Waschen	Färbung mit konz. H_2SO_4
1— 2	Benzol	wenig	gelb, schmierig	
3— 5	Benzol-Aether . (1:1)	»	» »	
6	» » . (1:3)	»	» »	
7— 8	Benzol-Chloroform (9:1)	»	» »	
9—10	» » (8:2)	»	» »	
11—13	» » (1:1)	ca. 1,2	Kryst. Smp. 134—140°	braun
14	» » (1:1)	0,14	» » 138—142°	»
15	» » (1:1)	0,18	» » 139—143°	
16	» » (1:1)	0,06		
17	» » (1:3)	0,16	» » 139—142°	
18	Chloroform	0,26	» » 138—141°	»
19	»	0,23	» » 208—226°	braun-braunrot
20	»	0,1	» » 216—245°	» »
21	»	0,11	» » 170—244°	» »
22	»	0,14	» » 168—242°	braun-weinrot
23	»	0,08	» » 160—166°	braun-grünblau
24	»	0,1	» » 164—166°	
25	Chlf.-Methanol . (99:1)	0,8	» » 159—165°	» »
26	» » . (19:1)	1,98	» » 159—165°	
27	» » . (9:1)	0,16		
28	Methanol			
29	»			

Alle Fraktionen wurden einzeln im reduzierten Vakuum bei 40° Badtemperatur eingedampft, der Rückstand in ein kleines tariertes Kölbchen gespült und im Vakuum völlig getrocknet und gewogen. Die Fraktionen 1—10 gaben dabei nur sehr geringe Mengen von gelbem, schmierigem Rückstand, der verworfen wurde. Die Fraktionen 11—27 hinterließen beim Eindampfen im Vakuum einen farblosen oder gelblichen Schaum, der jeweils mit wenig Methanol verflüssigt, dann mit Aether nicht ganz bis zur Trübung versetzt und gut verschlossen stehen gelassen wurde. Dabei trat in allen Fällen entweder spontan oder beim Animpfen mit Nachbarfraktionen Kristallisation ein.

Die Kristalle aus den Fraktionen 11—18 erwiesen sich trotz scheinbarer Einheitlichkeit als Gemische und wurden zusammen mit analogen Kristallisaten aus der Chromatographie von Ansatz II weiter getrennt (vgl. weiter unten).

1. Isolierung des unbekannten Glykosids vom Smp. 202—217°.

Alle über 200° schmelzenden Kristalle aus den Chromatographiefraktionen 19—22, die teilweise bis 240° schmolzen, wurden in Methanol gelöst, die Lösung mit etwas Wasser versetzt und auf ein kleines Volumen eingeengt, wobei rein weiße, beidseitig zugespitzte Prismen ausfielen, die abgenutscht, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet wurden. Sie schmolzen unscharf bei 202—217°. Durch nochmaliges Umkristallisieren in gleicher Weise wurde der Schmelzpunkt nicht verändert. Die Kristalle lösten sich jetzt in konz. Schwefelsäure mit dunkelbrauner Farbe, die beim Stehen über kastanienbraun in ein schmutziges Rosa überging. Das Glykosid gab eine positive Legalprobe sowie eine positive Keller-Kiliani-Reaktion; der Geschmack war wenig bitter. Am isolierten Froschherz sowie am Froschherz in situ erwies es sich als etwa gleich stark wirksam wie Ouabain (g-Strophanthin)[59]. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{15} = +\ 24{,}0° \pm 2°$ (c = 0,9567 in Methanol).

9,687 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{15} = +\ 0{,}23° \pm 0{,}02°$.

Wegen der zweifelhaften Reinheit wurde auf eine Analyse verzichtet. Das in üblicher Weise mit Essigsäureanhydrid und Pyridin durch 16stündiges Stehen bei Zimmertemperatur und anschließendes 1stündiges Wärmen auf 60° bereitete Acetat konnte bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden.

2. Isolierung von Allo-emicymarin.

Die aus den Fraktionen 23—26 erhaltenen Glykoside sowie die tiefer schmelzenden Kristalle aus den Fraktionen 19—22 wurden zusammen in Methanol gelöst, die filtrierte Lösung mit Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum bei 20° Badtemperatur abdestilliert, worauf reichliche Mengen von farblosen Kristallnadeln ausfielen, die sofort abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden. Emicymarin bleibt bei dieser Reinigung als Hydrat in der Mutterlauge. Die wäßrige Lösung des Emicymarins trübt sich beim Erwärmen, daher muß die Trennung ohne Erwärmen durchgeführt werden. Das Allo-emicymarin wurde

anschließend aus abs. Alkohol-Aether und aus Methanol-Aether umkristallisiert, wobei 0,5 g farblose, flache, beidseits gerade abgeschnittene Nadeln erhalten wurden, die meist bei 160—162° schmolzen. Die Schmelze erstarrte bei weiterem Erhitzen dann meistens zwischen 170—200° teilweise, worauf bei 260—265° definitives Schmelzen eintrat. In manchen Fällen sinterten die Kristalle bei 160° lediglich und schmolzen erst bei 260—264°. Umkristallisieren aus abs. Alkohol lieferte farblose, zu dichten Drusen vereinigte, prismatische Nadeln, die meistens unscharf bei 240—254° (Zers.), gelegentlich auch erst bei 260° fertig schmolzen. Die spez. Drehung betrug nach 4stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 80°: $[\alpha]_D^{16} = +\ 28{,}7° \pm 1{,}5°$ (c = 1,883 in Methanol).

47,1 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +\ 0{,}54° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung 24 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet, was offenbar noch nicht ganz genügte, und im Schweinchen eingewogen.

4,029 mg Subst. gaben 9,56 mg CO_2 und 3,04 mg H_2O
3,879 mg Subst. verbr. 2,167 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$-Lösung (Zeisel-Vieböck)
$C_{30}H_{46}O_9$ (550,67) Ber. C 65,43 H 8,42 —OCH_3 5,63 %
Gef. C 64,75 H 8,44 —OCH_3 5,78 %

Das Glykosid gab eine positive Legalprobe und eine negative Keller-Kiliani-Reaktion. Beim Anfeuchten mit konz. Schwefelsäure entstand eine orange Lösung, die beim Stehen allmählich blau wurde. Der Geschmack war nur sehr wenig bitter. Am Froschherz (isoliert und in vitro) erwies sich der Stoff als sehr wenig wirksam[59]. Die Eigenschaften stimmen weitgehend mit den von *Lamb* und *Smith*[12] für Allo-emicymarin angegebenen überein.

Acetat. Zur Bereitung des in der Literatur noch nicht beschriebenen Diacetats des Allo-emicymarins wurden 100 mg Allo-emicymarin in 1 cm³ Pyridin gelöst, mit 1 cm³ Essigsäureanhydrid versetzt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und darauf 1 Stunde auf 60° erhitzt. Das Pyridin und das Essigsäureanhydrid wurden im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Chloroform aufgenommen, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Umkristallisieren aus Aceton-Aether lieferte farblose Blättchen, die bei 153 –156° schmolzen und nach 1½stündigem Trocknen bei 60° die spez. Drehung $[\alpha]_D^{12} = +\ 21{,}3° \pm 2°$ (c = 1,036 in Chloroform) zeigten.

10,331 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +\ 0{,}22° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde 16 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,676 mg Subst. gaben 8,634 mg CO_2 und 2,634 mg H_2O
4,847 mg Subst. verbr. 2,188 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$-Lösung (Zeisel-Vieböck)
$C_{34}H_{50}O_{11}$ (634,74) Ber. C 64,33 H 7,94 —OCH_3 4,89 %
Gef. C 64,10 H 8,02 —OCH_3 4,64 %

Das UV.-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

[59] Die Versuche wurden im Laboratorium der Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel durchgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

3. Isolierung von Emicymarin.

Die wäßrigen Mutterlaugen des Allo-emicymarins (aus Fraktionen 19—26) wurden im Vakuum eingedampft und der gut getrocknete Rückstand aus Methanol-Aether umkristallisiert. Die bei 159—164° schmelzenden Kristalle schmeckten sehr stark bitter und wogen 600 mg. Zur völligen Reinigung wurde das Hydrat bereitet. Die Kristalle wurden in verdünntem Methanol gelöst und die filtrierte Lösung im Vakuum bei 20° Badtemperatur völlig von Methanol befreit, wobei eine klare Lösung entstand, die sich beim Erwärmen unter Abscheiden feiner Tropfen stark trübte, beim Abkühlen aber wieder klar wurde. Nach einigem Stehen bei 18° trat Abscheidung des Hydrats in langen, farblosen Nadeln ein. (Durch Impfen kann die Kristallisation sofort eingeleitet werden.) Sie wurden abgenutscht, mit Wasser gewaschen und 48 Stunden im Exsikkator über Chlorkalzium ohne Vakuum getrocknet. Die Kristalle wurden bei etwa 100° opak und schmolzen bei 200—205°. Die Schwefelsäurereaktion war orange, dann in blau übergehend. Die Mischprobe mit Allo-emicymarin schmolz bei 158—164°, gab also keine Depression. Bei der Prüfung am isolierten Froschherz war das Produkt etwa gleich stark wie g-Strophanthin, am Froschherz in situ erwies es sich als deutlich schwächer wirksam als dieses[59]. Die Legalprobe war positiv, die Keller-Kiliani-Reaktion negativ, der Geschmack sehr stark bitter. Zur Bestimmung der Drehung wurde das Hydrat 3½ Stunden im Hochvakuum bei 95° getrocknet. $[\alpha]_D^{13} = +\ 11{,}7° \pm 2°$ (c = 1,803 in Methanol).

45,1 mg Subst. zu 2,5012 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +\ 0{,}21° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse diente das Hydrat, das im Exsikkator ohne Vakuum 48 Stunden über Chlorkalzium getrocknet war und dann 3 Mol Wasser enthielt.

3,794 mg Subst. gaben 8,266 mg CO_2 und 2,920 mg H_2O
32,6 ± 0,2 mg Subst. 4 Stunden bei 0,01 mm und 100° getrocknet, Gewichtsverlust 2,5 ± 0,2 mg.
$C_{30}H_{46}O_9 \cdot 3H_2O$ (604,72) Ber. C 59,58 H 8,67 H_2O 8,96 %
Gef. C 59,46 H 8,61 H_2O 7,65 %

Eine Probe des Trihydrats wurde 16 Stunden im Vakuum bei 70° getrocknet und gab dann Werte, die ungefähr auf ein Monohydrat stimmen.

3,841 mg Subst. gaben 8,88 mg CO_2 und 2,80 mg H_2O
2,086 mg Subst. verbr. 1,170 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$-Lösung (Zeisel-Vieböck)
$C_{30}H_{46}O_9 \cdot H_2O$ (568,68) Ber. C 63,36 H 8,50 —OCH_3 5,47 %
Gef. C 63,09 H 8,16 —OCH_3 5,80 %

Alle Eigenschaften stimmen sehr gut mit denjenigen des von *Lamb* und *Smith*[12] aus Strophanthus Eminii isolierten Emicymarins überein mit dem einzigen Unterschied, daß diese den Stoff durch Umkristallisieren aus wäßrigem Alkohol in einer Form erhielten, die beim Trocknen 11,6 % Wasser verlor, was auf ein Tetrahydrat stimmt.

Acetat. 93 mg des aus Strophanthus kombé isolierten Emicymarins wurden in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 0,8 cm³ Essigsäureanhydrid ver-

setzt und die Mischung 4 Stunden unter Feuchtigkeitsausschluß auf 50° erwärmt. Nach der wie bei der Alloverbindung durchgeführten Aufarbeitung kristallisierte das Acetat aus Aceton-Aether in farblosen, sechseckigen Blättchen vom Smp. 272—274°. Sie wurden eine Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = + 27{,}5° \pm 2°$ (c = 0,8743 in Chloroform).

8,7426 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{16} = + 0{,}24° \pm 0{,}02°$
3,926 mg Subst. gaben 9,32 mg CO_2 und 2,82 mg H_2O
3,646 mg Subst. verbr. 1,959 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$-Lösung (Zeisel-Vieböck)
8,085 mg Subst. verbr. 0,371 cm³ n/10 KOH (4stündige heiße Verseifung)
$C_{34}H_{50}O_{11}$ (634,74) Ber. C 64,33 H 7,94 —OCH_3 4,89 % Aequiv.-Gew. 211,6
Gef. C 64,20 H 7,96 —OCH_3 5,56 % Aequiv.-Gew. 217,9

Lamb und *Smith*[12] fanden für Emicymarin-diacetat den Smp. etwa 278° und eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = + 22{,}8°$ (c = 1,4 in Methanol).

3. a) Spaltung des Emicymarins: Untersuchung des Aglykons.

0,5 g Emicymarin wurden in 40 cm³ 50proz. Methanol gelöst und das Methanol im Vakuum abdestilliert, wobei eine klare Lösung entstand, die mit 30 cm³ n-Schwefelsäure versetzt wurde. Nun wurde auf 100° erhitzt und soviel Aethanol zugetropft, daß die beim Erwärmen entstehende ölige Abscheidung eben in Lösung ging. Das Gemisch wurde hierauf 5 Stunden unter Rückfluß auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, wobei sich die Mischung leicht gelb färbte und Fehlingsche Lösung schwach, aber deutlich reduzierte. Nach dem Erkalten wurde ein Teil des Alkohols im Vakuum entfernt, wobei leicht gelbliche Nadeln auskristallisierten, deren Abscheidung durch längeres Stehen und weiteres vorsichtiges Absaugen des Alkohols möglichst vervollständigt wurde. Die abgenutschten, mehrmals mit Wasser gewaschenen und im Vakuum getrockneten Kristalle wogen 150 mg und schmolzen bei 150—200°. Die Mutterlaugen wurden im Vakuum vollständig vom Alkohol befreit und hierauf dreimal mit Chloroform und zweimal mit Aether ausgeschüttelt. Die verbleibende schwefelsaure Lösung diente zur Isolierung des Zuckers (vgl. weiter unten). Die mit wenig Kaliumhydrogen-Karbonatlösung und etwas Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat getrockneten Chloroformauszüge hinterließen nach dem Trocknen und Eindampfen noch 60 mg rohes Aglykon. Da sich weder aus diesem Teil noch aus dem direkt in Kristallen erhaltenen Material durch Umkristallisieren ein einheitliches Produkt isolieren ließ, wurde die ganze Menge (210 mg) in 25 cm³ abs. Benzol heiß gelöst und über eine mit abs. Benzol bereitete Säule aus 6,3 g Aluminiumoxyd (Merck, standardisiert nach Brockmann) nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 25 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel. Jedes Filtrat wurde einzeln eingedampft und der Rückstand aus wenig Methanol-Aether umkristallisiert.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand
1— 7	Benzol	Spuren
8—10	Benzol-Chloroform . . . (9:1)	»
11	» » . . . (8:2)	ca. 240°
12—18	» » . . . (8:2)	205—209°
19—24	» » . . . (1:1)	z. T. 205—209°, Rest 240—260°
25—26	» » . . . (1:1)	265—276°
27—29	» » . . . (1:1)	260—275°
30	Chloroform	kristallisiert nicht
31	Chloroform-Methanol . . (1:1)	» »
32	Methanol	» »

Die Ausbeuten an Kristallen waren sehr klein, und ein großer Teil des Materials war zudem überhaupt nicht mehr aus der Säule eluierbar. In zur Analyse ausreichender Menge wurde nur die bei 205—209° schmelzende Substanz aus den Fraktionen 12—18 gewonnen. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Aether wurden farblose Stäbchen und Körner erhalten, die im Hochvakuum bei 80° getrocknet wurden. Der Schmelzpunkt war unverändert. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{12} = +4{,}8° \pm 5°$ (c = 0,8406 in Methanol).

8,401 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{12} = +0{,}04° \pm 0{,}05°$
3,796 mg Subst. gaben 10,243 mg CO_2 und 3,001 mg H_2O
$C_{23}H_{32}O_4$ (372,47) Ber. C 74,26 H 8,66 %
Gef. C 73,64 H 8,84 %

Die Analyse stimmt annähernd auf ein Mono-anhydro-periplogenin. *Lamb* und *Smith*[12] erhielten durch Hydrolyse von Emicymarin neben Trianhydro-periplogenin ein Mono-anhydro-periplogenin vom Smp. 269—277°, das eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{24} = +59°$ (c = 3 in Pyridin) zeigte. Es ist möglich, daß in unserer Substanz vom Smp. 205—209° ein anderes Mono-anhydro-Produkt desselben Aglykons vorliegt. Das höher schmelzende Material aus den Fraktionen 25—29, das möglicherweise mit dem Mono-anhydro-periplogenin von *Lamb* und *Smith* übereinstimmt, war leider für eine Analyse nicht ausreichend.

3. b) Spaltung des Emicymarins: Untersuchung des Zuckers.

Die vom Aglykon befreite schwefelsaure Lösung wurde in der Hitze mit frisch gefälltem Bariumkarbonat neutralisiert und über ein mit wenig Kohle und Bariumkarbonat gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare Filtrat wurde hierauf mit einer Spur Bariumkarbonat versetzt und im Vakuum bei 45° Badtemperatur vollständig eingedampft. Der Rückstand wurde in Aceton gelöst, die filtrierte Lösung eingedampft und der im Vakuum gut getrocknete Sirup (118 mg) in 0,72 cm³ Wasser gelöst, mit 0,055 cm³ (= 173 mg) Brom versetzt, die Mischung so lange kräftig geschüttelt, bis das flüssige Brom in Lösung gegangen war, und hierauf gut verschlossen

24 Stunden bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde das überschüssige Brom im Vakuum entfernt, die farblose Lösung mit überschüssigem Silberkarbonat geschüttelt und über ein mit Silberkarbonat gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare Filtrat war jetzt frei von Brom-ionen. Es wurde nun mit Schwefelwasserstoff behandelt, über ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter abgenutscht und die farblose Lösung im Vakuum eingedampft. Der verbleibende Sirup kristallisierte nach einigem Stehen im Exsikkator über Kalziumchlorid. Die mit etwas Aether gewaschenen Nadeln wurden im Molekularkolben bei 0,01 mm und 80° Badtemperatur sublimiert und aus Aceton-Aether umkristallisiert. Es wurden farblose Nadeln erhalten, die bei 136—138° schmolzen[60].

B. Chromatographische Trennung der amorphen Glykoside (Teil B) aus Ansatz II.

Das von kristallisierbaren Anteilen befreite Glykosidgemisch (Teil B) aus Ansatz II (4,9 g) wurde analog dem Teil B aus Ansatz I über 150 g Aluminiumoxyd chromatographiert, wobei mit je 500 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen wurde.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Gewicht in g	Rückstand Aussehen, bzw. Smp. der Krist. nach einmaligem Waschen	Färbung mit konz. H_2SO_4
1—2	Benzol	wenig	gelb, schmierig	
3—4	Benzol-Chloroform (9:1)	»	» »	
5—7	» » (8:2)	»	» »	
8	» » (1:1)	0,09	» »	
9	» » (1:1)	0,12	Kryst. Smp. 136—139°	wie Cymarin
10	» » (1:1)	0,36	» » 136—141°	»
11	» » (1:1)	0,13	» » 139—144°	»
12	» » (1:1)	0,03		»
13	» » (1:1)	0,02	» » 138—143°	»
14	Chloroform . . .	0,26	» » 137—142°	»
15	»	0,28	» » 231—244°	braungrün
16	»	0,38	» » 160—170°	blau
17	»	0,22	» » 160—170°	»
18	»	0,15	» » 160—170°	»
19	»	0,30	» » 161—170°	»
20	»	0,14	» » 158—166°	»
21	»	0,07	» » 159—168°	»
22	Chloroform-Methanol (99:1)	0,52	» » 160—167°	»
23	» » (95:5)	0,91	» » 158—164°	»
24	» » (9:1)	0,12		
25	» » (9:1)	wenig		

[60] Digitalonsäurelakton schmilzt nach *H. Kiliani*, Arch. Pharmaz. *230*, 250 (1892) bei 138—139° (nach Sintern von 130° an). *Lamb* und *Smith*[12] fanden einen Smp. von 137—138°.

1. Nachweis von Allo-cymarin.

Die bei 136—139°, bzw. 136—141° schmelzenden Kristalle der Fraktionen 9 und 10 gaben bei der Mischprobe mit Cymarin keine Schmelzpunktserniedrigung. Trotzdem lag kein Cymarin, sondern zur Hauptsache offenbar Allo-cymarin vor, wie durch Herstellung des Acetates bewiesen wurde.

Acetat. 47 mg Kristalle aus Fraktion 9 wurden in 0,5 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 0,5 cm³ Essigsäureanhydrid versetzt, unter Feuchtigkeitsausschluß 16 Stunden bei 18° stehen gelassen und anschließend eine Stunde auf 60° erwärmt. Hierauf wurde wie bei Allo-emicymarinacetat aufgearbeitet. Das Acetat schied sich aus Aceton-Aether zuerst gallertig ab und verwandelte sich allmählich in zu Drusen vereinigte Nadeln, die nach dem Waschen mit Aether bei 124—127° schmolzen. 125 mg Kristalle aus Fraktion 10 wurden in gleicher Weise acetyliert und lieferten ein identisches Acetat (Mischprobe). Beide Kristallisate wurden daher vereinigt und nochmals aus viel Aether durch Einengen umkristallisiert. Die beim Animpfen der konz. Lösung erhaltenen farblosen Nadeldrusen erweichten bei langsamem Wärmen bei 121° und schmolzen bis 126° zu einer dicken Flüssigkeit. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{12} = + 49{,}4° \pm 2°$ (c = 0,830 in Chloroform).

8,294 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = + 0{,}41° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde zunächst im Hochvakuum bei 80° getrocknet, dann im Schiffchen 10 Minuten im Vakuum bei 130° geschmolzen und im Schweinchen eingewogen.

3,532 mg Subst. gaben 8,405 mg CO_2 und 2,523 mg H_2O
4,162 mg Subst. verbr. 2,286 cm³ n/50 $Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck)
11,192 mg Subst. verbr. 0,366 cm³ n/10 KOH (4stünd. heiße Verseifung)
$C_{32}H_{46}O_{10}$ (590,69) Ber. C 65,06 H 7,85 —OCH_3 5,25 % Aequiv.-Gew. 295,3
Gef. C 64,94 H 7,99 —OCH_3 5,68 % Aequiv.-Gew. 305,8

Das Acetat entspricht in seiner Bruttoformel somit dem Cymarinacetat. Da dieses jedoch bei 160—161° schmilzt[2], muß es sich um ein Isomeres handeln. Unser Acetat gab eine positive Legalprobe, wodurch Isocymarin ausgeschlossen wird, sodaß es sich höchstwahrscheinlich um das noch nicht beschriebene Acetat des Allo-cymarins[5] handelt. Zwar zeigt Cymarinacetat dieselbe Drehung ($[\alpha]_{20}^{D} = + 49{,}4°$ [Alkohol][4]), doch liegen die Drehungen der herzwirksamen und der entsprechenden Alloverbindungen stets nahe zusammen. (Nachweis von Allo-cymarin durch Spaltung vgl. bei C 1d.)

2. Nachweis von Cymarin.

50 mg Kristalle aus Fraktion 14 der Chromatographie von Teil B aus Ansatz II wurden wie oben acetyliert. Das Acetat kristallisierte aus Aceton-Aether nach Animpfen mit Cymarin-acetat teilweise. Die erhaltenen farblosen Nädelchen wogen 15 mg und schmolzen bei 158—164°; beim Weiterheizen trat teilweises Wiedererstarren ein, worauf die Substanz

bei etwa 200° ein zweites Mal schmolz. Die Mischprobe mit Cymarinacetat gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Mutterlauge der Kristalle war nicht mehr zur Kristallisation zu bringen.

C. Untersuchung des kristallisierten Glykosidgemisches vom Smp. 135—143° (aus Chromatographie von Teil B aus Ansatz I).

1. Hydrolytische Spaltung.

Da es sich bei den Kristallen vom Smp. 135—143° aus den Fraktionen 11—18 der Chromatographie von Teil B aus Ansatz I um ein ähnliches Gemisch handelte wie bei den gleich schmelzenden Kristallen aus den Fraktionen 8—14 der Chromatographie von Teil B aus Ansatz II, wurde zunächst versucht, einen Einblick in die Zusammensetzung durch hydrolytische Spaltung zu gewinnen.

870 mg Kristalle aus den Fraktionen 11—13 und 130 mg Kristalle der Fraktionen 14—18 (beides aus Chromatographie von Teil B aus Ansatz I) wurden zusammen in 25 cm³ Methanol gelöst und nach Zusatz von 25 cm³ n/10 Schwefelsäure 30 Minuten unter Rückfluß gekocht. Hierauf wurde das Methanol im Vakuum abdestilliert, wobei sich 350 mg schwach gelbliche Kristalle vom Smp. 210—240° ausschieden. Diese gaben mit konz. Schwefelsäure eine Gelbfärbung, die langsam in Grün überging. Die wäßrige Lösung wurde hierauf dreimal mit Chloroform und zweimal mit Aether ausgeschüttelt. Die mit etwas Kaliumhydrogenkarbonatlösung und wenig Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen noch 450 mg rohes Aglykon. (Untersuchung des Zuckers im wäßrigen Rückstand siehe weiter unten.)

Da das erhaltene Aglykon offenbar ein Gemisch darstellte, aus dem sich durch Kristallisation keine einheitlichen Stoffe isolieren ließen, wurde die ganze Menge (800 mg) chromatographisch getrennt. Da das Material in Benzol praktisch unlöslich war, wurde es dreimal mit je 200 cm³ Chloroform ausgekocht, worauf nur noch ein kleiner Rest ungelöst zurückblieb, der mit konz. Schwefelsäure eine grüne Reaktion gab.

Die Chloroformlösungen wurden durch eine mit Chloroform bereitete Säule aus 25 g Aluminiumoxyd (Merck, standardisiert nach Brockmann) filtriert und anschließend mit je 50 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen. Jede Fraktion wurde einzeln eingedampft und einmal aus Methanol-Aether oder reinem Methanol umkristallisiert.

1. a) Chromatographie der Aglykone.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Smp.	Färbung mit konz. H_2SO_4
1— 7	Chloroform	230—260°	gelb-violett-blau (sehr langsam)
8—10	»	220—250°	gelb-blau
11—14	»	215—270°	gelb-grüngelb-blau (ca. 15 Minuten)

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Smp.	Färbung mit konz. H_2SO_4
15	»	250—260°	gelb — sehr wenig blau
16—23	»	250—260°	gelb
24—26	Chloroform-Methanol (200:1)	250—260°	»
27—31	» » (200:1)	250—260°	»
32—35	» » (100:1)	250—260°	»
36—39	» » (50:1)	138—140°, dann 240°	»
40—42	» » (50:1)	Spuren	
43—44	» » (20:1)	—	
45	» » (9:1)	—	
46	Methanol	—	

1. b) Isolierung von Allo-periplogenin (?) als Acetat.

Auf Grund der Farbreaktion mit Schwefelsäure wurde in den Fraktionen 1—10 (Chromatographie der Aglykone) die Anwesenheit von Periplogenin oder Allo-periplogenin vermutet. Das erstere schmilzt nach *Jacobs*[15] bei 235° nach Sintern bei 140° und gibt mit konz. Schwefelsäure eine orange Lösung, die in Indigoblau übergeht. Allo-periplogenin ist bis jetzt unbekannt.

Aus den Fraktionen 1—7 wurden die nach Abtrennung der schwerlöslichen Anteile vom Smp. 230—260° verbliebenen Mutterlaugen vereinigt und erneut zur Kristallisation gebracht. Die erhaltenen bei 220 bis 246° schmelzenden Kristalle wurden mit dem bei 220—250° schmelzenden Material aus den Fraktionen 8—10 vereinigt (44 mg), in 0,5 cm^3 abs. Pyridin gelöst, mit 0,5 cm^3 Essigsäureanhydrid versetzt, unter Feuchtigkeitsausschluß 16 Stunden bei 18° stehen gelassen und anschließend 1 Stunde auf 50° erwärmt. Das wie oben isolierte rohe Acetat wurde in wenig Aceton gelöst und die Lösung mit Aether versetzt, wobei neben gallertiger Abscheidung auch Kristallbildung eintrat. Durch leichtes Erwärmen und vorsichtige Zugabe von etwas mehr Aceton konnte die Gallerte in Lösung gebracht und die Ausbildung langer, dünner Nadeln begünstigt werden, deren Abscheidung zum Schluß durch Zusatz von mehr Aether möglichst vervollständigt wurde. Die mit Aether gewaschenen Nadeln schmolzen bei 194—197°, die Schmelze erstarrte jedoch größtenteils sofort wieder, worauf bei 212—226° endgültiges Schmelzen eintrat. Nach nochmaligem Umkristallisieren war der Schmelzpunkt unverändert. Zur Drehung wurde 1¼ Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet. $[\alpha]_D^{11} = + 52{,}5° \pm 2°$ (c = 0,8767 in Chloroform).

8,762 mg Subst. zu 0,9994 cm^3; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{11} = + 0{,}46° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde 4 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

4,095 mg Subst. gaben 10,440 mg CO_2 und 3,112 mg H_2O
10,475 mg Subst. verbr. 0,459 cm³ n/10 KOH (4stünd. heiße Verseifung)
$C_{25}H_{36}O_6$ (432,53) Ber. C 69,42 H 8,39 % Aequiv.-Gew. 216,27
Gef. C 69,57 H 8,50 % Aequiv.-Gew. 228,2

Das Acetat zeigt somit die gleiche Zusammensetzung wie Periplogenin-acetat, ist aber sicher davon verschieden, denn authentisches Periplogenin-acetat (vgl. weiter unten) schmilzt bei 230—242° und die Mischung beider bereits bei 180—195°. Auch die Kristallform ist verschieden. Da es isomer mit Periplogenin-acetat ist und mit konz. Schwefelsäure dieselbe Farbreaktion (orange → blau) liefert wie dieses, halten wir es für äußerst wahrscheinlich, daß das noch nicht beschriebene Allo-periplogenin vorliegt.

1. c) Periplogenin-acetat (aus authentischem Periplogenin).

Eine Probe reines Periplogenin[61] aus Periploca Graeca (das Präparat schmolz zuerst bei etwa 135—150° und nach Wiedererstarren bei 233 bis 235°) wurde analog acetyliert. Das Acetat kristallisierte aus Aceton in farblosen, flachen, gerade abgeschnittenen Prismen und schmolz fein verrieben bei raschem Erhitzen bei etwa 230—242° (Zers., Gelbfärbung von etwa 220° an). Die spez. Drehung einer 1¼ Stunden im Hochvakuum bei 60° getrockneten Probe betrug: $[\alpha]_D^{14} = + 46{,}7° \pm 3°$ (c = 0,8565 in Chloroform).

8,565 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = + 0{,}40° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde drei Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,522 mg Subst. gaben 8,963 mg CO_2 und 2,628 mg H_2O
$C_{25}H_{36}O_6$ (432,53) Ber. C 69,42 H 8,39 %
Gef. C 69,45 H 8,35 %

Das Produkt gibt mit konz. Schwefelsäure eine orange Lösung, die beim Stehen in Blau übergeht.

1. d) Nachweis von Allo-strophanthidin.

Die bei 250—260° schmelzenden Kristalle aus den Fraktionen 16—26 (Chromatographie der Aglykone) zeigten nach Umkristallisieren aus Methanol einen Smp. von 258—262°[62]. Die Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure war rein gelb wie die des Strophanthidins. Zum Nachweis diente das Allo-strophanthidin-oxim. 30 mg obiger Substanz wurden in 0,5 cm³ Alkohol gelöst, mit der Lösung von 30 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 30 mg Natriumacetat in einem Tropfen Wasser versetzt und das Gemisch während drei Stunden unter Rückfluß gekocht. Dann wurde Wasser zuge-

[61] Wir danken Herrn Professor *A. Stoll*, Basel bestens für die Ueberlassung dieses Materials.

[62] *W. A. Jacobs*, Journ. biol. Chemistry 88, 519 (1930), fand für Allo-strophanthidin (Prismen oder Blättchen aus Alkohol) einen Smp. von 248—250° und die spez. Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 37°$ (c = 0,508 in Alkohol).

geben, der Alkohol im Vakuum entfernt, die erhaltenen Kristalle abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Alkohol schmolzen sie bei 233—236°. Die Schmelze erstarrte bei weiterem Erhitzen, worauf bei 260—280° endgültiges Schmelzen unter Zersetzung eintrat[63]. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,750 mg Subst. gaben 0,128 cm³ N_2 (14°; 720 mm)
$C_{23}H_{33}O_6N$ Ber. N 3,34 %
Gef. N 3,04 %

Allo-strophanthidin-acetat.

Das wie üblich bereitete Acetat schied sich aus Aceton-Aether stets in gallertiger Form ab. Auch aus Dioxan und Eisessig gelang es nicht, gut ausgebildete Kristalle zu erhalten. Die mit Aether verriebene und gewaschene Gallerte gab beim Trocknen ein farbloses Pulver, das bei 198 bis 200° schmolz. Bei weiterem Erwärmen erstarrte die Schmelze wieder teilweise, um bei 223—228° ein zweites Mal zu schmelzen. Wegen der zweifelhaften Reinheit des gallertigen Produkts wurde keine Analyse ausgeführt.

1. e) Nachweis von Strophanthidin.

Die Kristalle aus den Fraktionen 36—39 (Chromatographie der Aglykone) schmolzen bei 138—140°, die Schmelze erstarrte bei weiterem Erwärmen bei 160—180° wieder, worauf die Masse bei 240° endgültig schmolz. Reines Strophanthidin verhält sich ebenso, und die Mischprobe gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

1. f) Isolierung des Zuckers.

Die mit Chloroform und Aether ausgeschüttelte schwefelsaure wäßrige Lösung wurde mit überschüssigem, frisch aus reinem Bariumhydroxyd mit Kohlendioxyd gefälltem und mit heißem Wasser gewaschenem Bariumkarbonat heiß neutralisiert und hierauf über ein mit wenig Kohle und Bariumkarbonat gedichtetes Filter abgenutscht. Das Filtrat wurde mit einer Spur Bariumkarbonat versetzt und im Vakuum bei 45° Badtemperatur zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde in wenig Aceton gelöst, die filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft und der gut getrocknete Sirup in abs. Aether aufgenommen, wobei nur eine Spur Harz ungelöst zurückblieb. Die eingedampfte Aetherlösung hinterließ einen Sirup, der beim Animpfen mit Cymarose sofort kristallisierte. Er wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm und 80—90° Badtemperatur destilliert, wobei alles bis auf einen sehr geringen Rückstand überging. Das Destillat kristallisierte aus Aether-Petroläther in Nadeln vom Smp. etwa 85°. Die Mischprobe mit Cymarose gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Durch Spaltung des bei 135—143° schmelzenden Glykosidgemisches (aus Chromatographiefraktionen 11—18 von Teil B, Ansatz I) wurde somit Cymarose und ein Gemisch von Aglykonen erhalten, aus dem sich Strophanthidin, Allo-strophanthidin sowie ein Stoff isolieren ließ, der höchst wahrscheinlich Allo-periplogenin darstellt.

[63] *W. A. Jacobs*, Journ. biol. Chemistry *88*, 519 (1930), fand für Allo-strophanthidin-oxim (vierseitige Blättchen oder Prismen aus Alkohol) einen Smp. von 235°.

2. Trennung mit Girards Reagens T.

a) *Vorprobe:* 50 mg Cymarin-acetat und 50 mg Girards Reagens T[14] wurden in 1 cm³ Methanol gelöst, mit 0,5 cm³ Eisessig versetzt und 15 Minuten leicht gekocht. Nach Abkühlen der Lösung auf —10° wurde in einem Gusse mit einem Gemisch von Eis und soviel Natronlauge versetzt, daß 95 % der Essigsäure neutralisiert wurden. Das Gemisch, das jetzt ein Volumen von etwa 10 cm³ hatte, wurde dreimal mit 80 cm³ auf —10° vorgekühltem Aether ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Aether-Lösung hinterließ nach dem Eindampfen nur Spuren Substanz, woraus hervorgeht, daß sich Cymarin-acetat mit Hilfe von Girards Reagens T unter den angewandten Bedingungen quantitativ umsetzen läßt.

b) *Hauptversuch:* 250 mg kristallisiertes Glykosidgemisch vom Smp. 135—143° aus den Fraktionen 9—11 der Chromatographie von Teil B aus Ansatz II wurden wie üblich acetyliert. Das erhaltene Acetat (275 mg) konnte nicht kristallisiert werden und wurde zur Abtrennung des Cymarins und Allo-cymarins in derselben Weise wie die Vorprobe mit Girards Reagens T behandelt. Beim Hinzufügen der eisgekühlten Natronlauge zum Reaktionsgemisch bildete sich ein weißer Niederschlag, der beim dreimaligen Ausschütteln mit je 200 cm³ Aether in Lösung ging. Die Aetherauszüge wurden wie oben gewaschen, getrocknet und eingedampft, wobei 150 mg acetyliertes, cymarinfreies Glykosidgemisch als weißer, amorpher Rückstand verblieben. Da sich durch direkte Kristallisation daraus kein einheitliches Produkt erhalten ließ, wurde zur chromatographischen Trennung in 40 cm³ Benzol gelöst und durch eine mit Benzol bereitete Säule von 5 g Aluminiumoxyd (Merck, standardisiert nach Brockmann) filtriert. Zum Nachwaschen dienten je 15 cm³ der in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmittel.

b1) *Chromatographie von 0,15 g cymarinfreiem Glykosidacetat aus Fraktionen 9—11 der Chromatographie von Teil B aus Ansatz II.*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Smp.
1	Benzol	—
2—3	Benzol-Chloroform (8:2)	—
4—5	» » (1:1)	—
6	» » (1:3)	wenig
7	» » (1:3)	122—126°
8	» » (1:3)	121—124°
9	» » (1:3)	122—125°
10	» » (1:3)	123—140°
11	» » (1:3)	120—140°
12	Chloroform	132—136°
13	»	Spur
14	»	—
15—17	Chloroform-Methanol (9:1)	—
18	Methanol	—

b2) *Isolierung von Allo-periplocymarin-acetat.*

Die Fraktionen 7—9, die bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten, wurden vereinigt und aus Aether umkristallisiert, wobei 20 mg farblose, glänzende, zu Drusen vereinigte dünne Blättchen erhalten wurden, die bei 120—123° schmolzen, worauf auch bei längerem Wärmen kein Wiedererstarren beobachtet wurde. Die Mischprobe mit Periplocymarin-acetat (vgl. weiter unten), das nach starkem Verreiben ein erstes Mal bei 128—136° schmilzt, schmolz bei 122—136°. Die spez. Drehung einer im Hochvakuum bei 60° getrockneten Probe betrug $[\alpha]_D^{11} = + 53{,}9° \pm 3°$ (c = 0,9088 in Chloroform).

9,083 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{11} = + 0{,}49° \pm 0{,}02°$.

Die Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure war genau wie bei Periplocymarin-acetat zuerst schmutzig-braun und ging beim Stehen in Blau über. Die Legalprobe war positiv. Zur Analyse wurde acht Stunden im Hochvakuum bei 110° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

2,448 mg Subst. gaben 5,955 mg CO_2 und 1,814 mg H_2O
$C_{32}H_{48}O_9$ (576,70) Ber. C 66,64 H 8,39 %
Gef. C 66,39 H 8,29 %

Wir vermuten, daß Allo-periplocymarin-acetat vorliegt, und es soll gelegentlich noch versucht werden, dies zu beweisen. Für die Unterscheidung vom sonst sehr ähnlichen Periplocymarin-acetat ist die Kristallform (aus Aether) relativ aufschlußreich.

b3) *Isolierung von Periplocymarin-acetat.*

Die Fraktionen 10 und 11, die offenbar Gemische darstellten, wurden nicht weiter getrennt und vernachlässigt.

Die Fraktion 12 gab aus Aether lange farblose Nadeln, die nach starkem Zerreiben bei 129—137° schmolzen. Die Schmelze wurde mit einer Spur der Kristalle, die aus dem geschmolzenen authentischen Periplocymarin-acetat (vgl. weiter unten) bei 150° auskristallisierten, angeimpft, wobei sie erstarrte, um bei 198° ein zweites Mal zu schmelzen. Authentisches Periplocymarin-acetat sowie die Mischprobe schmolzen unter denselben Bedingungen gleich. Mit konz. Schwefelsäure entstand zuerst eine schmutzigbraune Farbe, die beim Stehen in Blau überging. Die spez. Drehung einer 1¼ Stunden im Hochvakuum bei 60° getrockneten Probe betrug: $[\alpha]_D^{13} = + 46{,}1° \pm 5°$ (c = 0,4776 in Chloroform).

4,773 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = + 0{,}22° \pm 0{,}05°$.

Zur Analyse wurde drei Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,760 mg Subst. gaben 9,172 mg CO_2 und 2,831 mg H_2O
$C_{32}H_{48}O_9$ (576,70) Ber. C 66,64 H 8,39 %
Gef. C 66,57 H 8,43 %

Die Substanz zeigt also mit Periplocymarin-acetat Uebereinstimmung in Kristallform, Schwefelsäurereaktion, Drehung, Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Analysenresultat, woraus wir auf Identität der beiden Verbindungen schließen.

c) Periplocymarin-acetat aus authentischem Periplocymarin.

Eine Probe reines Periplocymarin[64] aus Periploca Graeca wurde wie oben acetyliert. Das Acetat kristallisierte aus Aether in langen flachen Nadeln und schmolz nach starkem Verreiben stets unscharf bei 128—136°. Manchmal erstarrte die Schmelze sofort wieder zu körnigen Kristallen, die sich bei 178° wieder verflüssigten, oder aber sie erstarrte erst bei etwa 150° zu Rosetten von konzentrisch wachsenden Kristallen, die sich erst bei 198° verflüssigten. In konz. Schwefelsäure löste sich das Acetat mit schmutzig-brauner Farbe, die bald in Blau überging. Die spez. Drehung einer 1¼ Stunden im Hochvakuum bei 60° getrockneten Probe betrug $[\alpha]_D^{14} = + 41{,}7° \pm 3°$ (c = 0,9346 in Chloroform).

9,340 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = + 0{,}39° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde drei Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,146 mg Subst. gaben 7,674 mg CO_2 und 2,39 mg H_2O
$C_{32}H_{48}O_9$ (576,70) Ber. C 66,64 H 8,39 %
Gef. C 66,57 H 8,50 %

D. Trennung von Teil A (Rohcymarin).

3,65 g Teil A (kristallisiertes Rohcymarin aus Ansatz I und II) vom Smp. etwa 138—144° wurden nochmals aus Methanol-Aether umkristallisiert und lieferten 2,85 g Kristalle vom Smp. 138—140°, die mit konz. Schwefelsäure dieselbe braune Färbung wie Cymarin gaben, mit dem einzigen Unterschied, daß die Lösung nach einiger Zeit einen grünlichen Ton annahm, was bei Cymarin nicht der Fall ist. Die ebenfalls kristalline Mutterlauge (0,8 g) zeigte mit Schwefelsäure dieselbe Farbreaktion. Die 2,85 g Kristalle wurden acetyliert und das rohe Acetat (3,13 g) mit Girards Reagens T getrennt, wobei 1,62 g cymarinfreie Glykosidacetate resultierten. Das umkristallisierte Rohcymarin enthielt somit trotz scheinbarer Einheitlichkeit nur knapp 50 % Cymarin und Allo-cymarin. Aus den 0,8 g Mutterlauge wurde in gleicher Weise 0,9 g rohes Acetat gewonnen, das nach Behandlung mit Girards Reagens T noch 0,58 g cymarinfreies Acetatgemisch lieferte. Aus den so abgetrennten cymarinfreien Glykosidacetaten ließen sich durch Chromatographie über Al_2O_3 neben reichlichen Mengen amorpher Anteile wieder Periplocymarin-acetat und Emicymarin-acetat isolieren. Auch die beiden entsprechenden Alloverbindungen dürften darin enthalten gewesen sein. Die Trennung dieser vier Acetate durch

[64] Wir danken Herrn Dr. *Wettstein* und der Gesellschaft für Chemische Industrie, Basel für die Ueberlassung dieses Materials.

Chromatographie ist aber nicht günstig, da die Unterschiede im Haftvermögen relativ klein sind, sodaß auf eine detaillierte Beschreibung verzichtet wird[65].

Verarbeitung der Samen von «Strophanthus hispidus».

195 g eines alten, als «Semen Strophanthi hispidi» bezeichneten Sammlungspräparates, das nach pharmakognostischer Prüfung mindestens vier verschiedene Samenarten enthielt, wurden grob gemahlen und durch dreimaliges, je ¼stündiges Schütteln mit je 400 cm³ Petroläther entfettet. Hierauf wurde das Material fein gemahlen, durch nochmaliges Ausziehen mit Petroläther bei Zimmertemperatur vollständig entfettet und getrocknet. Die Auszüge hinterließen insgesamt 70 g Fett. Die 125 g entfettetes Samenpulver wurden mit 320 cm³ Wasser angeteigt, mit 13 cm³ Toluol versetzt und die Mischung verschlossen 7 Tage bei 15° stehen gelassen. Anschließend wurde genau wie oben bei Strophanthus kombé beschrieben aufgearbeitet, wobei 4,1 g im Vakuum getrocknetes Glykosidgemisch als grüngelbe, schaumige Masse erhalten wurde. Sie wurde in wenig Methanol gelöst, die Lösung mit Aether bis fast zur bleibenden Trübung versetzt und einige Tage gut verschlossen bei 0° stehen gelassen, wobei sich reichliche Mengen von Kristallen abschieden, die nach einmaligem Umkristallisieren 1,7 g Teil A (Rohcymarin) vom Smp. 129—133° lieferten, der mit konz. Schwefelsäure eine braune Farbreaktion gab. Eine Probe wurde acetyliert. Das Acetat schmolz bei 162—168° und nach Wiedererstarren ein zweites Mal bei 200°. Die Mischprobe mit authentischem Cymarinacetat gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die vereinigten, im Vakuum getrockneten Mutterlaugen (Teil B) wogen 2,4 g und wurden wieder chromatographiert.

A. Chromatographische Trennung von Teil B (amorphe Glykoside).

Die 2,4 g amorphes Glykosidgemisch wurden dreimal mit je 450 cm³ abs. Benzol ausgekocht und die nach dem Erkalten erhaltene Lösung durch eine mit abs. Benzol bereitete Säule von 75 g Aluminiumoxyd (Merck, standardisiert nach Brockmann) filtriert. Der ungelöste Anteil des Glykosidgemisches wurde hierauf in 24 cm³ Chloroform gelöst, die Lösung mit 216 cm³ abs. Benzol verdünnt und ebenfalls auf die Säule gegossen, die anschließend mit je 240 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel ausgewaschen wurde.

[65] Viel besser ist es, die nicht acetylierten Rohglykoside mit Girards Reagens zu trennen, wobei zum Ausschütteln Chloroform verwendet wird, und die cymarinfreien Anteile ohne Acetylierung zu chromatographieren, wobei sich ein Gemisch von Periplocymarin und Allo-periplocymarin sehr leicht von Emi- und Allo-emicymarin abtrennen läßt. Dazwischen wird wieder das unbekannte Glykosid erhalten. Zur Trennung des Periplo- und Allo-periplocymarins kann dann vorteilhaft acetyliert und das Acetatgemisch nochmals einer Chromatographie unterworfen werden. Dies wird in einer späteren Arbeit noch genau beschrieben.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Gewicht, Smp.	Farbreaktion mit konz. H_2SO_4
1— 3	Benzol	wenig gelber, schmieriger Rückstand	
4— 6	Benzol-Chloroform (9:1)		
7— 8	» » (4:1)		
9—11	» » (1:1)		
12	» » (1:3)	10 mg 128—133°	braun wie Cymarin
13	» » (1:3)	45 mg 128—133°	» » »
14—16	» » (1:3)	15 mg 128—133°	» » »
17	Chloroform	140 mg 127—132°	dunkelbraun-dunkelblau
18	»	55 mg 127—132°	» »
19—22	»	20 mg amorph	
23	Chlf.-Methanol (99:1)	45 mg 154—158°	orange-rotbraun-braun-blau wie Emicymarin
24	» » (99:1)	55 mg —	
25	» » (99:1)	10 mg amorph	
26	» » (99:1)	10 mg amorph	
27	» » (19:1)	90 mg 145—150°	schmutziggrün
28	» » (19:1)	125 mg 145—150°	»
29	» » (9:1)	125 mg 145—150°	
30	» » (9:1)	15 mg	

Die Fraktionen 1—11 lieferten nur sehr geringe Mengen eines gelben, schmierigen Rückstandes, der verworfen wurde. Der Eindampfrückstand der Fraktionen 12—16 (zusammen 210 mg) kristallisierte aus Methanol-Aether weitgehend; das Produkt erwies sich als Cymarin.

Die Fraktionen 17—18 (zusammen 585 mg) gaben beim Umkristallisieren aus Methanol-Aether zunächst 290 mg Kristalle, die hauptsächlich aus Sarmentocymarin bestanden. Aus den Mutterlaugen schied sich noch etwas Cymarin aus.

Die Fraktionen 19—22 lieferten zusammen nur 60 mg Rückstand, der nicht kristallisierte.

Die Fraktionen 23—24 (zusammen 300 mg) kristallisierten aus Methanol-Aether weitgehend; die Kristalle erwiesen sich als Emicymarin.

Die Fraktionen 25 und 26 gaben zusammen nur etwa 60 mg Rückstand, der nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Die Fraktionen 27—29 lieferten zusammen 1020 mg Material, das aus Methanol-Aether, Alkohol, Aceton oder Essigester nicht kristallisiert werden konnte. In heißem Benzol löste sich die Substanz wenig und schied sich beim Erkalten in undeutlichen, farblosen Körnern ab, die bei etwa 145—150° schmolzen (unidentifiziertes Glykosid).

1. Isolierung des unidentifizierten Glykosides.

Obiges aus Benzol erhaltene Rohprodukt gab beim Kristallisieren aus Wasser Prismen, die bei 155—162° schmolzen. Die Farbreaktion mit konz.

Schwefelsäure gab eine schmutzig-grüne Farbe, die über Braungrün in Hellgrün überging.

Bei der Prüfung am isolierten Froschherz war das Produkt nur wenig schwächer wirksam als g-Strophanthin (Ouabain), doch scheint es in seinem Wirkungscharakter etwas abweichend zu sein[66].

2. Isolierung des Sarmentocymarins.

Die ersten aus den Fraktionen 17 und 18 aus Methanol-Aether erhaltenen Kristallisate (zusammen 270 mg) schmolzen bei 127—132° und lösten sich in konz. Schwefelsäure mit dunkelbrauner Farbe, die beim Stehen in ein tiefes Blau überging. Denselben Schmelzpunkt und eine gleiche Schwefelsäure-Reaktion zeigte Sarmentocymarin[67], mit dem unser Präparat bei der Mischprobe keine Schmelzpunktsdepression gab. Unsere Kristalle schmeckten dagegen noch schwach bitter, während Sarmentocymarin geschmacklos ist. Wir vermuteten, daß der bittere Geschmack von einer Verunreinigung durch etwas Cymarin hervorgerufen wird. Daher haben wir unser Präparat in Methanol gelöst, die Lösung mit Wasser versetzt und im Vakuum bis zur reichlichen Kristallisation eingeengt. Die abgenutschten und mit Wasser gewaschenen, farblosen Kristalle wurden nochmals in gleicher Weise gereinigt. Sie schmolzen nun bei 126—128° und wiesen keinen bitteren Geschmack mehr auf. Die Farbreaktion mit Schwefelsäure war unverändert.

3. Sarmentocymarin-acetat.

36 mg Sarmentocymarin wurden in 0,4 cm^3 abs. Pyridin gelöst, mit 0,4 cm^3 Essigsäureanhydrid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 43 Stunden bei 15° stehen gelassen. Das in üblicher Weise isolierte Acetat erwies sich als leicht ätherlöslich; es konnte bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden.

4. Sarmentogenin.

100 mg Sarmentocymarin wurden in 5 cm^3 Methanol gelöst, die Lösung mit 5 cm^3 n/10 Schwefelsäure versetzt und 30 Minuten unter Rückfluß gekocht. Hierauf wurde das Methanol im Vakuum bei 20° Badtemperatur abdestilliert, wobei sich sofort farblose, körnige Kristalle ausschieden, die nach mehrstündigem Stehen bei 0° abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden und 63 mg wogen. Die wäßrige Lösung wurde dreimal mit Chloroform und zweimal mit Aether ausgeschüttelt und dann genau wie bei der Isolierung der Cymarose beschrieben auf

[66] Die Gesellschaft für Chemische Industrie, in deren Laboratorium die Prüfung durchgeführt wurde, erwähnt im diesbezüglichen Rapport noch folgendes: Bei einer Verdünnung von $1 : 10^6$ (1 mg per kg) zeigte das Produkt ähnlich wie g-Strophanthin eine allmählich eintretende systolische Einstellung, ohne daß es in allen Versuchen zu einem ganz typischen systolischen Stillstand kam. Bei $1 : 10^5$ trat systolischer Stillstand ein, doch schien er gegenüber g-Strophanthin verzögert und nur nach vorübergehender Ueberleitungsstörung zustandezukommen.

[67] Wir verdanken diese Probe der Freundlichkeit von Herrn Dr. *W. A. Jacobs*, New York.

Sarmentose verarbeitet, von der 15 mg als farbloser Sirup erhalten wurden. Aus der beim Ausschütteln erhaltenen Chloroformlösung ließ sich noch eine kleine Menge rohes Sarmentogenin gewinnen.

Das rohe Sarmentogenin lieferte beim Umkristallisieren aus Methanol-Aether 57 mg reines Produkt, das bei 264—267° schmolz (nach Sintern ab 258°). Ein von Herrn Dr. *W. A. Jacobs* freundlichst übersandtes Vergleichspräparat schmolz genau gleich, und die Mischprobe gab keine Depression. Mit konz. Schwefelsäure überdeckt blieben beide Präparate einige Sekunden farblos, wurden dann gelb und über eine grüne Mischfarbe schließlich blau.

Das durch Acetylierung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid (16 Stunden bei 15° und anschließendes einstündiges Erwärmen auf 60°) bereitete Sarmentogenin-acetat konnte bisher nicht kristallisiert erhalten werden.

5. Sarmentogenon.

39 mg Sarmentogenin wurden in 2,5 cm³ reinstem Eisessig und 0,5 cm³ Wasser unter schwachem Erwärmen gelöst, nach Abkühlen auf Zimmertemperatur mit 1 cm³ 2proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur zum Sirup eingedampft, dieser mit Wasser versetzt und die Suspension zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden mit Aether verdünnt, die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, zunächst auf dem Wasserbad eingeengt und zum Schluß im Vakuum völlig eingedampft. Der Rückstand wog 23 mg und lieferte aus Aceton-Aether sofort zu Büscheln vereinigte, farblose, flache, gerade abgeschnittene Nadeln, die bei 235—237° schmolzen[68]. Sie wurden im Hochvakuum bei 80° getrocknet und zeigten die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{18} = +14{,}0° \pm 2°$ (c = 1,002 in Dioxan).

10,016 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +\ 0{,}14° \pm 0{,}02°$
3,540 mg Subst. gaben 9,257 mg CO_2 und 2,505 mg H_2O
$C_{23}H_{32}O_5$ (388,49) Ber. C 71,10 H 8,31 %
$C_{23}H_{30}O_5$ (386,48) Ber. C 71,49 H 7,83 %
Gef. C 71,36 H 7,92 %

Die gefundenen Werte stimmen somit besser auf die wasserstoffärmere Formel.

B. Trennung von Teil A (Rohcymarin aus «Str. hispidus»).

0,75 g Teil A (Rohcymarin vom Smp. 129—133°) wurden, wie bei Strophanthus kombé beschrieben, mit Girards Reagens getrennt, nur daß zum Ausschütteln der aldehydfreien Anteile Chloroform statt Aether verwendet wurde. Es resultierten dabei 165 mg cymarinfreies Glykosidgemisch, aus dem sich durch fraktioniertes Umkristallisieren aus Methanol-

[68] *Jacobs* [40] fand für Sarmentogenon Smp. 226° (unkorr.).

Aether 68 mg eines Glykosids vom Smp. 230—240° isolieren ließen, das mit H_2SO_4 eine kastanienbraune Farbreaktion gab, sowie 22 mg rohes Sarmentocymarin.

C. Vergleichspräparate.

1. Digoxigenon.

39 mg Digoxigenin[69] vom Smp. 222° wurden wie Sarmentogenin in genau gleicher Weise oxydiert. Nach Umkristallisieren aus Aceton wurden 14 mg zu Rosetten vereinigte, farblose Prismen erhalten, die bei 254—260° schmolzen und eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{18} = + 121{,}0° \pm 2°$ (c = 0,983 in Dioxan) zeigten[70].

9,825 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = + 1{,}19° \pm 0{,}02°$.

2. Pregnanol-(3α)-dion-(12,20)-acetat.

100 mg Pregnan-diol-(3α,12β)-on-(20)-monoacetat-(3)[53] wurden in 2 cm³ Eisessig gelöst, mit 2,1 cm³ 2proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung versetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Darauf wurde wie bei Sarmentogenon aufgearbeitet, wobei 95 mg rohes Oxydationsprodukt resultierten, das aus Aceton-Aether in rhombischen Plättchen vom Smp. 159—160° kristallisierte. Die im Hochvakuum bei 60° getrocknete Probe zeigte eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = + 178{,}4° \pm 2°$ (c = 1,026 in Aceton).

10,405 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = + 1{,}83° \pm 0{,}02°$.

Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,607 mg Subst. gaben 9,762 mg CO_2 und 2,932 mg H_2O
$C_{23}H_{34}O_4$ (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15 %
Gef. C 73,86 H 9,10 %

3. Spez. Drehung von Pregnan-trion-(3,12,20)[51] in Aceton.

Das ½ Stunde im Hochvakuum bei 60° getrocknete Präparat[51] zeigte die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{13} = + 168{,}8° \pm 2°$ (c = 1,197 in Aceton).

12,139 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = + 2{,}02° \pm 0{,}02°$.

4. Spez. Drehung von 3α-Acetoxy-12-keto-ätiocholansäure-methylester[54] in Aceton.

Das ½ Stunde bei 60° im Hochvakuum getrocknete Präparat[54] zeigte eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{16} = + 150{,}0° \pm 2°$ (c = 1,674 in Aceton).

[69] Dieses Material verdanken wir Herrn Professor *A. Stoll*, Basel.
[70] Nach *S. Smith* (Journ. chem. Soc. London *1935*, 1305) schmilzt Digoxigenon bei 265° (unkorr.) unter Zersetzung.

16,974 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = + 2{,}51^\circ \pm 0{,}02^\circ$.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich (Leitung H. Gubser und W. Manser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

Curriculum vitae.

Als Sohn des Georg Ernst Katz, Dr. phil., Apotheker, und der Klara geb. Straus, wurde ich, Alfred Katz, am 9. August 1916 in Basel geboren. Meine Schulbildung erhielt ich in Basel, zuerst in der Primarschule, dann drei Jahre im Gymnasium und darauf fünf Jahre im Realgymnasium, wo ich im Jahre 1935 die Maturität bestand.

Im selben Jahre immatrikulierte ich mich an der phil.-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel zum Studium der Pharmazie. Nach Abschluß des Fachstudiums und bestandenem Staatsexamen im Frühjahr 1941 begann ich anschließend unter der Leitung von Herrn Professor T. Reichstein in der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel die vorliegende Dissertation.

Im Verlaufe meiner Studien besuchte ich die Vorlesungen und Praktika bei den Herren Professoren und Dozenten: R. Doerr, Fr. Fichter, J. A. Häfliger, A. Hagenbach, A. Jetzler, K. Leupin, T. Reichstein, E. Rothlin, H. Rupe, G. Senn, R. Viollier, W. Vischer.